This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7 : B01J 19/00, B01L 3/00 | A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/45950

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 10. August 2000 (10.08.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/00365

(22) Internationales Anmeldedatum: 4. Februar 2000 (04.02.00)

(30) Prioritätsdaten:
199 04 784.7 5. Februar 1999 (05.02.99) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D–69120 Heidelberg (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: MATYSIAK, Stefan [DE/DE]; In der Neckarhelle 11, D–69118 Heidelberg (DE).

(74) Anwalt: HUBER, Bernard; Huber & Schüssler, Truderinger Strasse 246, D–81825 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Mit internationalem Recherchenbericht.
Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: FLOW–THROUGH DEVICE AND ITS USE FOR BINDING POLYMERS TO MEMBRANE SURFACES

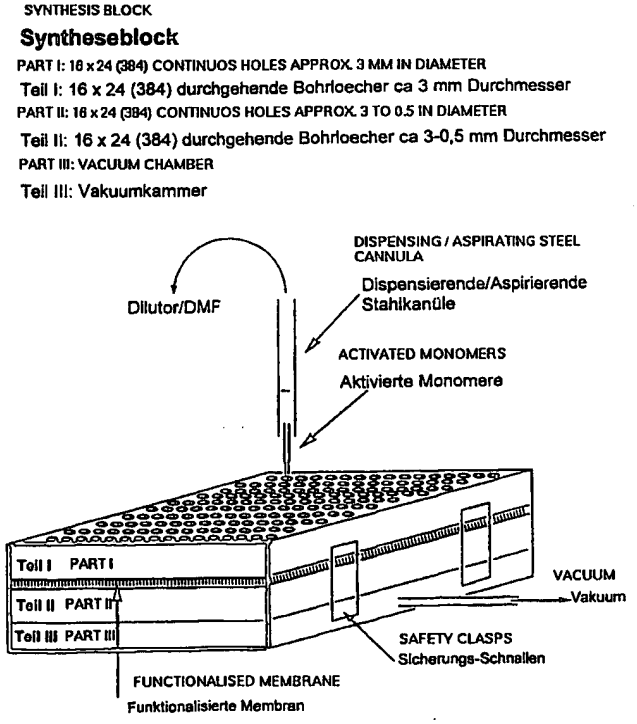
(54) Bezeichnung: DURCHFLUSSEINRICHTUNG SOWIE IHRE VERWENDUNG ZUM BINDEN VON POLYMEREN AN MEMBRANOBERFLÄCHEN

(57) Abstract

The invention relates to a flow–through device and its use for binding polymers to membrane surfaces, the position of said polymers on said surfaces being determined via x, y parameters. The flow–through device is used in particular with a method of synthesis of membrane–bonded molecular libraries. The figure shows a flow–through device of the type provided for in the invention, in the form of a synthesis block.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Durchflusseinrichtung sowie ihre Verwendung zum Binden von Polymeren an Membranoberflächen, deren Position dort über x,y–Parameter festgelegt wird. Insbesondere wird diese Durchflusseinrichtung bei einem Verfahren zur Synthese von membrangebundenen Molekülbibliotheken eingesetzt. Eine erfindungsgemässe Durchflusseinrichtung in Form eines Syntheseblocks ist in der Figur gezeigt.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	**ES**	Spanien	**LS**	Lesotho	**SI**	Slowenien
AM	Armenien	**FI**	Finnland	**LT**	Litauen	**SK**	Slowakei
AT	Österreich	**FR**	Frankreich	**LU**	Luxemburg	**SN**	Senegal
AU	Australien	**GA**	Gabun	**LV**	Lettland	**SZ**	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	**GB**	Vereinigtes Königreich	**MC**	Monaco	**TD**	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	**GE**	Georgien	**MD**	Republik Moldau	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagaskar	**TJ**	Tadschikistan
BE	Belgien	**GN**	Guinea	**MK**	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Griechenland			**TR**	Türkei
BG	Bulgarien	**HU**	Ungarn	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	**IE**	Irland	**MN**	Mongolei	**UA**	Ukraine
BR	Brasilien	**IL**	Israel	**MR**	Mauretanien	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Island	**MW**	Malawi	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	**IT**	Italien	**MX**	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**UZ**	Usbekistan
CG	Kongo	**KE**	Kenia	**NL**	Niederlande	**VN**	Vietnam
CH	Schweiz	**KG**	Kirgisistan	**NO**	Norwegen	**YU**	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**NZ**	Neuseeland	**ZW**	Zimbabwe
CM	Kamerun			**PL**	Polen		
CN	China	**KR**	Republik Korea	**PT**	Portugal		
CU	Kuba	**KZ**	Kasachstan	**RO**	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	**LC**	St. Lucia	**RU**	Russische Föderation		
DE	Deutschland	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Dänemark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Schweden		
EE	Estland	**LR**	Liberia	**SG**	Singapur		

3DOCID: <WO___0045950A1_I_>

Durchflußeinrichtung sowie ihre Verwendung zum Binden von Polymeren an Membranoberflächen

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Durchflußeinrichtung sowie ihre Verwendung zum Binden von Polymeren an Membranoberflächen, deren Position dort über x,y-Parameter festgelegt wird. Insbesondere wird diese Durchflußeinrichtung bei einem Verfahren zur Synthese von membrangebundenen Molekülbibliotheken eingesetzt.

Die Festphasensynthese von Oligomeren oder kleineren organischen Verbindungen an quellbaren oder nicht quellbaren Trägermaterialien findet meistens an Harzen aus relativ inerten Polymeren (z.B. hochvernetztem Polystyrol) statt, die zu kleinen monodispersen Kügelchen oder zu Pulvern mit einer definierten Zahl von funktionellen Gruppen an ihrer Oberfläche gefertigt sind. Nach Abschluß der Synthese bzw. entsprechender Entschützungsprozeduren, die in getrennten Reaktionskammern stattfinden, können diese Produkte in geeigneten Gefäßen aufgefangen werden. Das ursprüngliche Raster, also die Anordnung bei der Synthese geht dabei verloren oder muß durch aufwendige Maßnahmen wiederhergestellt werden, z.B. durch Umpipettieren. Mit dieser Methode ist es damit fast unmöglich ganze Molekülbibliotheken aufzubauen.

Desweiteren gibt es die Synthese von "spatially addressable combinatorial libraries", also Molekülbibliotheken, bei denen die Information über die Sequenz bzw. die durchgeführten chemischen Schritte über die x,y-Anordnung festgelegt sind. Hier ist insbesondere die parallele Synthese von "Molekül-Arrays" nach der SPOT-Methode (Frank, R., Tetrahedron 48, S. 9217-9232, 1992) auf porösen Membranen hervorzuheben, deren hauptsächlicher Nachteil in einem hohen Zeitaufwand sowie in einem nur mangelhaft entwickelten Automatisierungsgrad besteht.

)OCID: <WO___0045950A1_I_>

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht deshalb darin, eine Vorrichtung bereitzustellen, mit der eine automatisierbare Methode zum Binden von Polymeren, insbesondere zum Aufbau von Molekülbibliotheken, durchgeführt werden kann.

Die Automatisierung der Synthese von Molekülbibliotheken auf Membranoberflächen erfolgt durch den Einsatz einer erfindungsgemäßen Durchflußeinrichtung.
Durchflußeinrichtungen werden bisher nur zu Filtrationszwecken eingesetzt und sind z.B. von der Firma Schleicher & Schüll, 37582 Dassel erhältlich.

Vorteilhafterweise wird eine Durchflußeinrichtung in Form eines Syntheseblocks gemäß Fig. 1 eingesetzt. Die einzelnen Teile des Syntheseblocks sind in den Fig. 2a - 2e gezeigt. Dieser Syntheseblock zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß ein inertes Material verwendet wird, vorzugsweise Delrin, PTFE oder keramische Materialien.

Der in Fig. 1 gezeigte Syntheseblock zeichnet sich durch einen dreiteiligen Aufbau aus, wobei zwischen Teil I und Teil II eine Synthesemembran angeordnet ist.

Teil I enthält nebeneinander angeordnete Bohrlöcher, die einen Innendurchmesser von ca. 3 mm haben, wobei die Bohrloch-Durchmesser natürlich jede für die jeweilige Anwendung geeignete Größe haben können. An der Unterseite ist jedes Bohrloch durch einen Dichtring, z.B. aus PFTE/Silikon, abgedichtet. Die Anzahl der Bohrlöcher beträgt mindestens 96, verzugsweise 384 oder mehr.

Teil II weist vorzugsweise folgenden Aufbau auf: Unterhalb der x,y-Löcher von Teil I befindet sich eine grobporige Membran bzw. Platte, z.B. aus PE, PP, PFTE oder Delrin, von mehreren mm Dicke, vorzugsweise 2-15 mm, ganz bevorzugt 4-10 mm, als Unterlage für die vorzugsweise funktionalisierte Synthesemembran, die zwischen Teil I und II zu liegen kommt. Die Porengröße der grobporigen Membran beträgt vorzugsweise von

100 bis 250 µm, bevorzugt 120 bis 200 µm. In einer 1. Vertiefung von Teil II befinden sich eine entsprechende Anzahl von Bohrlöchern, die ebenso wie in Teil I mindestens 96, vorzugsweise 384 oder mehr, beträgt und auch mit jeweils einem Dichtring, z.B. aus PFTE/Silikon, abgedichtet sind. In einer 2. Vertiefung von Teil II wurde zur besseren Durchspülungs- und Absaugmöglichkeit ein Saugkanal zur Anlegung eines Vakuums vorgesehen. Durch diesen Aufbau von Teil II, insbesondere durch die grobporige Membran als Unterlage für die Synthesemembran, wird ein angelegtes Vakuum auch auf solche Regionen ausgeweitet, die außerhalb der Dichtungsringe liegen. Das Ansammeln und Verschleppen von unerwünschten Reagenzien wird so verringert. Außerdem ermöglicht diese Modifikation, daß mit einem einzigen Unterbau (Teil II und III) mehrere Reaktortypen (96-Loch, 384-Loch) verwendet werden können.

Teil III enthält eine Vorrichtung in Form mindestens eines Ansaugstücks, um an die Apparatur ein Vakuum anlegen zu können. Ebenso wie die Teile I und II weist Teil III nebeneinander angeordnete Bohrlöcher auf, die vorzugsweise in Anzahl und Größe denen der Teile I und II entsprechen. Eine bevorzugte Modifikation ist das Vorhandensein eines zweiten Vakuumkanals in Teil III, der verhindern soll, daß sich Reagenzien am äußeren Rand der Membran ansammeln. Die beiden Vakuumbereiche (Vakuumkammer unter der Membran, Vakuumkanal für die Randbereiche) sind durch Dichtungen, vorzugsweise aus Silikon, getrennt und können mit verschiedenen Unterdrücken betrieben werden.

Der Zusammenbau der Apparatur erfolgt durch Übereinanderlegen der Teile, wobei zur Arretierung noch Sicherungseinrichtungen, z.B. in Form von Schnallen, vorhanden sind.

Die sich zwischen Teil I und Teil II befindliche Synthesemembran ist eine solche, die sich zum Binden von Polymeren eignet und weist eine Porengröße von 0,1 bis 1,3 µm, bevorzugt 0,2 bis 1,0 µm auf. Eine solche Membran kann aus allen auf diesem Gebiet üblichen Materialien bestehen und

sollte vorzugsweise an ihrer Oberfläche funktionelle Gruppen, wie Hydroxyl-, Amino-, Amid-, Phosphat-, Alkyl-, Halogen-, Carboxyl-, Carbonyl-, Thio-, Arylgruppen, Ethengruppen (z.B. Vinyl-, Vinyloxy-, Vinyloxycarbonyl sowie die entsprechenden reinen Thio- bzw. gemischten Thio-Analoga) oder Ethingruppen tragen. Als Grundmaterialien der Membranen eignen sich Nylon, Polyamid, Cellulose, Polypropylen, PFTE, Polyolefin, Polyethylen oder Polystyrol, Polyvinylidenfluorid, Glasfiber, PVC, Polymethylpenten, Polynorbornen-Copolymere (z.B. Topas, Fa. Hoechst). Ganz bevorzugt handelt es sich bei der verwendeten Membran um eine Membran aus oberflächenoxidiertem (hydrophilisiertem) Polypropylen, das entsprechend derivatisiert wurde.

In bevorzugter Weise weist die Membran Kompartimente auf, die einmal automatisch dadurch entstehen, daß die Membran in den Syntheseblock eingespannt wird und durch die Dichtringe an der Unterseite von Teil I des Syntheseblocks Abschnürungen entstehen, die eine seitliche Abgrenzung der runden Reaktionsflächen bewirken. Die seriell aufzutragenden Reagentien, insbesondere die aktivierten Monomere bei der Herstellung einer Molekülbibliothek, werden nun exakt dosiert zugegeben, um laterale Kontaminationen zu vermeiden. Das abgegebene Volumen sollte so bemessen sein, daß die entstehenden Flecken nicht ineinanderlaufen. Alle parallel verlaufenden chemischen Schritte, z.B. Aufbringen der Waschlösungen, erfolgt im Überschuß, d.h. die Chemikalien verteilen sich in allen Reaktionskammern, werden aber durch ein angelegtes Vakuum durch die Unterlage nach unten abgesaugt. Seitlich wird vorzugsweise ein weiteres Vakuum angelegt, um überschüssiges Reagenz abzusaugen (vgl. Fig. 2e).

Andererseits können schon vorher auf der Membran abgeschweißte Bereiche aufgebracht werden, die exakt den Löchern der Teile I und II des Syntheseblocks entsprechen und in diese eingepaßt werden müssen. Dadurch entsteht formal eine den üblichen Syntheseformaten identische Anordnung mit relativ kleinen, gegeneinander abgegrenzten Membranflächen. Dies funktioniert

in der Weise, daß die Membran in den Syntheseblock eingelegt wird. Durch Abdrücken der Dichtungsringe und Anlegen eines erhöhten Drucks und/oder Temperatur oder durch Abdichten mit einem inerten thermoplastischen Kunststoff (z.B. niedrig schmelzendes Polypropylengranulat) unterhalb der Dichtungen entstehen einzelne abgetrennte Reaktionskammern. Reagentien, die seriell oder parallel aufgetragen werden sollen, können nun auch im Überschuß aufgebracht werden, ohne daß es zu einer lateralen Kontamination kommt, weil die Membrankompartimente gegeneinander abgedichtet sind. Es entsteht eine "Spiegelei"-Struktur, deren abgegrenzte Einheiten einen Vorteil hinsichtlich der Vermeidung von Kontaminationen und Verschleppen von Reaktanten über die gesamte Membran.

Reagentien werden über handelsübliche Synthesizer (z.B. Spotsynthesizer der Fa. Abimed Analysentechnik, Langenfeld, Deutschland) in die Löcher von Teil I des Syntheseblocks auf die Membranoberfläche pipettiert und dort kovalent durch eine chemische Reaktion gebunden. Überschüssige Reagentien bzw. Waschlösungen werden mittels Vakuum abgesaugt. Dadurch verkürzt sich die Zykluszeit erheblich, die Bindung der Polymere an der Membranoberfläche und somit der Aufbau einer Molekülbibliothek erfolgt um ein Vielfaches schneller. Neben der minimierten Synthesezeit ermöglicht die nach wie vor vorhandene Membranstruktur, daß die komplette Membran nach beendeter Synthese einem Screening-Verfahren (z.B. Hybridisierung einer radioaktiv markierten DNA-Sonde aufgrund spezifischer Basenpaarung) unterzogen werden kann. Dies findet statt, ohne daß die Oligomeren in andere Gefäße wie im Stand der Technik überführt werden oder auf anderen Trägern verankert werden müssen. Dadurch ist gewährleistet, daß beispielsweise die gesamte Molekülbibliothek unter exakt gleichen Bedingungen auf spezifische Wechselwirkungen hin überprüft werden kann.

Unter Polymeren sollen verzugsweise DNA, RNA, Aminosäuren, Peptide, Proteine, Nukleinsäureanaloga (z.B. PNA, LNA) verstanden werden.

XOCID: <WO__0045950A1_I_>

Die Erfindung wird weiter anhand der Figuren beschrieben, welche zeigen:

Fig. 1: Syntheseblock

Fig. 2: Aufbau des Syntheseblocks
- a: Syntheseblock Teil I Aufischt
- b: Syntheseblock Teil I Unterseite
- c: Syntheseblock Teil I Unterseite, Bohrloch vergrößert
- d: Syntheseblock Teil II Aufsicht
- e: Syntheseblock Teil III Aufsicht

Fig. 3:
- a: Membran hybridisiert mit $d(T)_{16}$ $^{33}P\gamma ATP$
- b: Membran zusätzlich hybridisiert mit $d(C)_{16}$ $^{33}P\gamma ATP$
- c: Kontrolle

Die Erfindung wird weiter anhand des Beispiels beschrieben:

Beispiel

Membran: hydrophilisiertes Polypropylen, Porengröße 0,2 µm, umgesetzt mit Trisamin-Jeffamin 500 (bisfunktionelles Amino-Polyethylenglykol) nach Carbonyldiimidazol-Aktivierung
Beladung: 0,12 µmol/cm²

Vorbehandlung: Membran mit einer Mischung aus 2 ml NMP, 33 µlDiisopropylcarbodiimid (DIC), 62,0 mg Fmoc-ß-Ala-OH, 27,0 mg HOAt eingeschweißt und 3 h bei 37°C inkubiert.

Reaktionszyklus:
- Capping in 20 ml DMF+600 µl Essigsäureanhydrid; 30"
- Capping in 20 ml DMF+600 µl

Essigsäureanhydrid; 2'
- 2 x waschen in DMF, 2' und 5'
- 2 x waschen in Ethanol, 2' und 5'
- 2 x waschen in DMF, 2' und 5'
- entschützen in 20% Piperidin in DMF
- 2 x waschen in DMF, 2' und 5'
- 2 x waschen in Ethanol, 2' und 5'
- 2 x waschen in DMF, 2' und 5'
- Färben in 20 ml DMF + 600 µl BPB-Stammlösung, 10 mg/ml
- Entfärben in Ethanol
- trocknen

Aus allen zu spottenden Aminosäuren wurden 0,3 molare Stammlösungen in NMP hergestellt und über Molsieb bei 4°C aufbewahrt.

Vor dem Spotten wurde die jeweilige Stammlösung aufgewärmt und im Verhältnis 1:1:1 mit 0,3 molarer HOAt-Stammlösung und 0,4 molarer DIC-Stammlösung gemischt. Von dieser Mischung wurden 0,2 µl pro Spot auf die Membran aufgetragen. Dies wurde 3 x wiederholt, die Reaktionszeit nach jedem Auftragen betrug jeweils 20-40 min.
Gespottet wurde ein 8x12 - Raster im Mikrotiterplattenformat.

Nach jeden Spotzyklus wurde der folgende, an die Apparatur gemäß Fig. 1 angepaßte Reaktionszyklus gefahren:

- Capping in 20 ml DMF + 600 µl Essigsäureanhydrid (+ 600 µl Pyridin); 200 µl pro Spot; 10' Reaktionszeit, absaugen
- 2 x waschen in DMF; 200 µl pro Spot; permanent absaugen
- 2 x waschen in Ethanol; permanent absaugen
- 2 x waschen in DMF; permanent absaugen
- entschützen in 20 % Piperidin in DMF; 10' Reaktionszeit, absaugen

XOCID: <WO___0045950A1_I_>

- 2 x waschen in DMF; 200 µl pro Spot; permanent absaugen
- 2 x waschen in Ethanol; permanent absaugen
- mindestens 45' trockensaugen.

Folgende Linkermoleküle werden aufgetragen:

- Fmoc-Rink-Handle (in Array 1, Zeilen 1-4) bzw. Fmoc-ß-Ala-OH (in Array 2 und 3, Zeilen 5-8 und 9-12)
- Fmoc-Lys(Dansyl)-OH.

Danach wurden 10 Zyklen mit Fmoc-A(aeg)-OH (Zeilen 1, 5, 9); Fmoc-C(aeg)-OH (Zeilen 2, 6, 10); Fmoc-G(aeg)-OH (Zeilen 3, 7, 11) bzw. Fmoc-T(aeg)-OH (Zeilen 4, 8 12) gespottet.

Die Membran wurde in die 3 Arrays aufgeteilt, Array 1 und 3 eingefroren.

Endbehandlung für Array 2:

Array 2 wurde 10 min bei RT in 9,5 ml TFA, 500 µl Triisobutylsilan inkubiert (Abspaltung der Seitenschutzgruppen), 2 x in DMF und 1 x in Ethanol gewaschen und getrocknet.

Danach wurde Array 2 in Hybridisierungslösung ($d(T)_{16}$ $^{33}P\gamma ATP$) für 30' bei RT inkubiert und gewaschen. Die Membran wurde dann über Nacht auf einem Phos-phorimager-Screen exponiert. Es zeigte sich das in Fig. 3a gezeigte Bild.

Die Membran wurde anschließend gewaschen und zusätzlich in Hybridisierungslösung ($d(C)_{16}$ $^{33}P\gamma ATP$) für 30' bei RT inkubiert, gewaschen und für 4 Tage auf einen Phosphorimager-Screen exponiert. Die Signale sind deutlich wie in Fig. 3b gezeigt.

Die Effizienz der ersten Kopplung kann anhand der Fluoreszenz-Intensität des ersten ankondensierten Bausteins ermittelt

DOCID: <WO__0045950A1_I_>

werden. In diesem Fall wurde Fmoc-Lys(Dansyl)-OH als erster Baustein eingesetzt. Wird dieser Fluoreszenz-Label während der Synthese an bestimmten Punkten nur eingesetzt, kann über die relative Intensität die Kondensationsausbeute bestimmt werden. Es ergibt sich bei 353 nm (normale UV-Lampe) das in Fig. 3c gezeigte Bild. Hieraus läßt sich erkennen, daß die Verteilung der Spots punktuell stattfand und keine Kreuzkontamination erfolgt.

Patentansprüche

1) Durchflußeinrichtung mit mindestens dreiteiligem Aufbau (Teil I - III), wobei
 - Teil I nebeneinander angeordnete Bohrlöcher enthält, die an ihrer Unterseite jeweils durch einen Dichtring abgedichtet sind,
 - Teil II eine grobporige Membran; in einer 1. Vertiefung nebeneinander angeordnete Bohrlöcher, die jeweils durch einen Dichtring abgedichtet sind; und in einer 2. Vertiefung einen Saugkanal zum Anlegen eines Vakuums enthält,
 - Teil III in einer 1. Vertiefung nebeneinander angeordnete Bohrlöcher, die jeweils durch einen Dichtring abgedichtet sind, und mindestens einen Anschluß zum Anlegen eines Vakuums enthält.

2) Durchflußeinrichtung nach Anspruch 1, wobei sich zwischen Teil I und Teil II eine Synthesemembran, die zur Bindung von Polymeren befähigt ist, befindet.

3) Durchflußeinrichtung nach Anspruch 2, wobei die Synthesemembran funktionalisiert ist.

4) Durchflußeinrichtung nach Anspruch 2 oder 3, wobei die Synthesemembran aus Nylon, Polyamid, Cellulose, Polypropylen, PFTE, Polyolefin, Polyethylen oder Polystyrol, Polyvinylidenfluorid, Glasfiber, PVC, Polymethylpenten oder Polynorbornen-Copolymere ist.

5) Durchflußeinrichtung nach Anspruch 3 oder 4, wobei die Synthesemembran Hydroxyl-, Amino-, Amid-, Phosphat-, Alkyl-, Halogen-, Carboxyl-, Carbonyl-, Thio-,

DOCID: <WO___0045950A1_I_>

Arylgruppen, Ethengruppen (z.B. Vinyl-, Vinyloxy-, Vinyloxycarbonyl sowie die entsprechenden reinen Thio- bzw. gemischten Thio-Analoga) oder Ethingruppen aufweist.

6) Durchflußeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei Teil III zwei Anschlüsse zum Anlegen von Vakuum aufweist.

7) Durchflußeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die grobporige Membran in Teil II aus Polyethylen, Polypropylen, PFTE oder Delrin besteht.

8) Durchflußeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Durchflußeinrichtung aus einem inerten Material aufgebaut ist.

9) Durchflußeinrichtung nach Anspruch 8, wobei das inerte Material Delrin, PTFE oder keramisches Material ist.

10) Verwendung der Durchflußeinrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zum Binden von Polymeren an Membranoberflächen.

11) Verwendung nach Anspruch 10, wobei es sich um den Aufbau von membrangebundenen Molekülbibliotheken handelt.

12) Verwendung nach Anspruch 10 oder 11, wobei die Polymeren bzw. Molekülbibliotheken DNA, RNA, Aminosäuren, Peptide, Proteinen, Nukleinsäureanaloga umfassen.

Syntheseblock

Teil I: 16 x 24 (384) durchgehende Bohrloecher ca 3 mm Durchmesser

Teil II: 16 x 24 (384) durchgehende Bohrloecher ca 3-0,5 mm Durchmesser

Teil III: Vakuumkammer

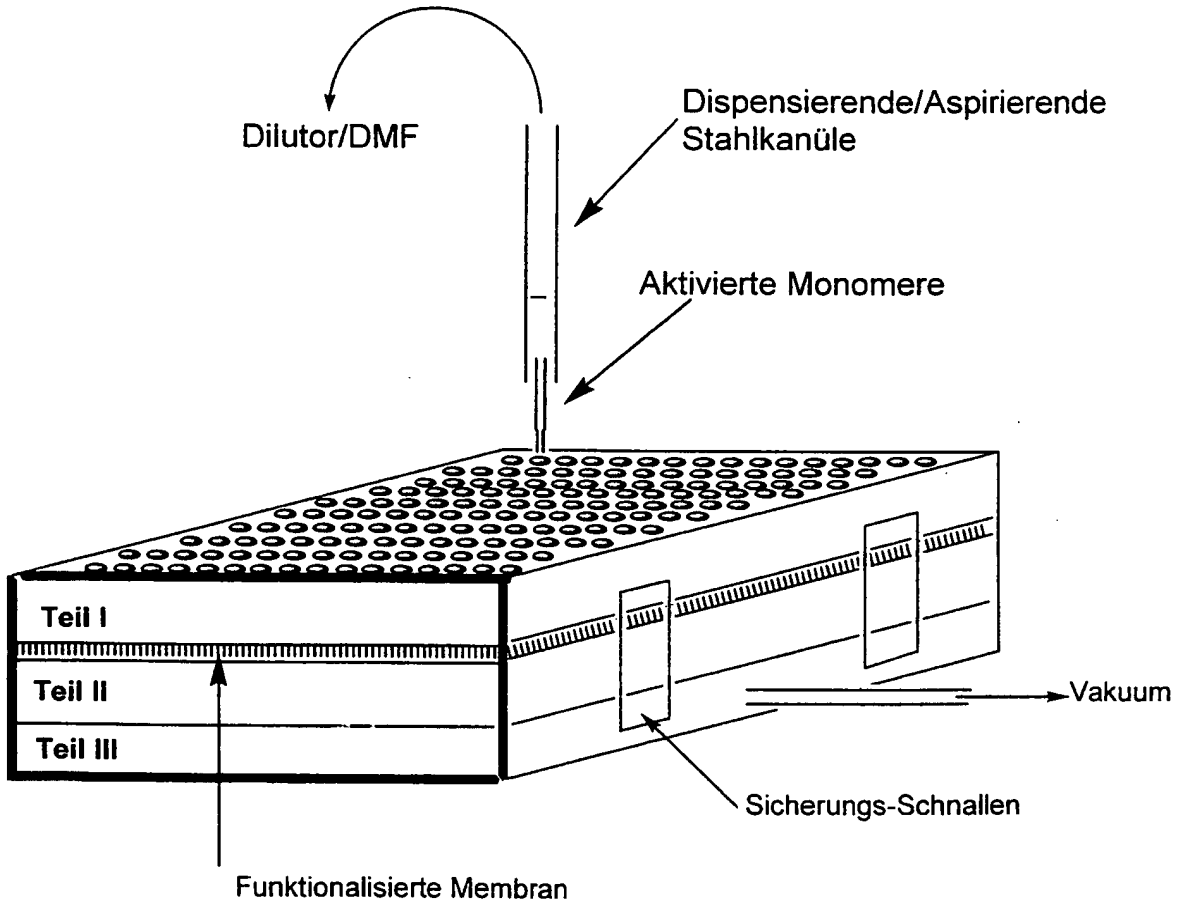
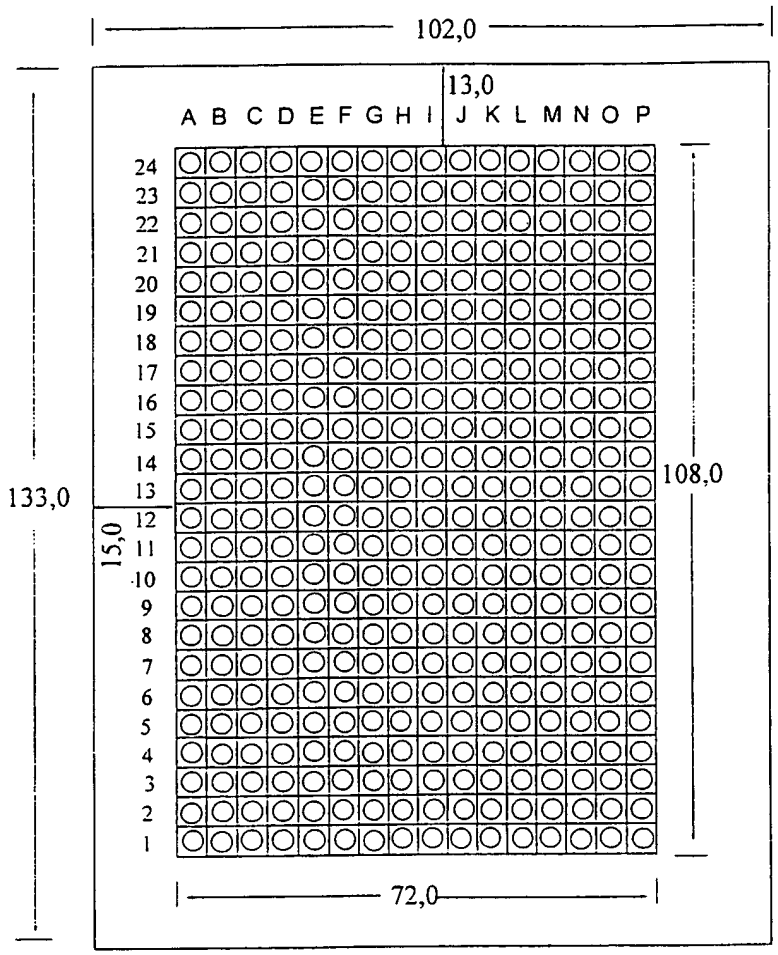


Fig. 1

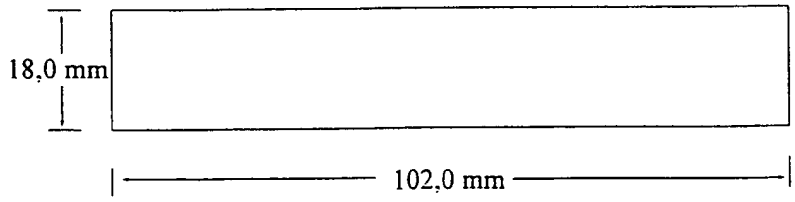
3DOCID: <WO___0045950A1_I_>

Syntheseblock (16x24=384) Teil I Aufsicht



Aufsicht:

○ Bohrloch Oberseite 3,00 mm Durchmesser



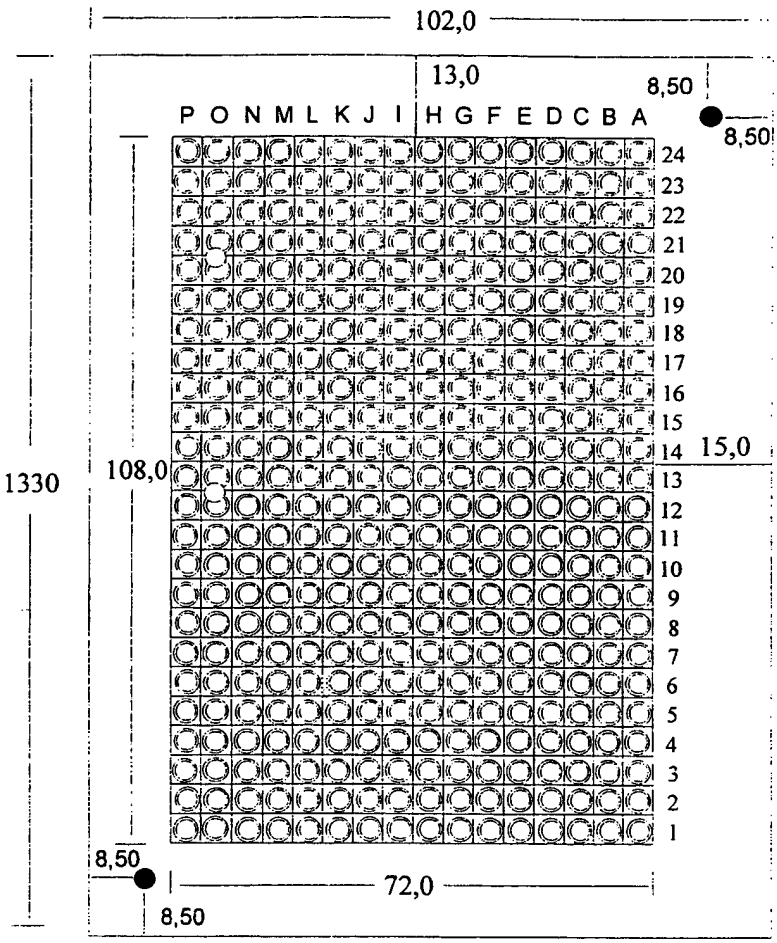
Seitenansicht:

Alle Angaben in mm; bei 3,0 mm Aussendurchmesser ergibt sich ein seitlicher Abstand von insgesamt 72-48 = 24 mm bzw. 108-72= 36mm also 24/16 = 36/24=1,50 mm Abstand von Aussenkante Bohrung 1 zu Bohrung 2; auf der Unterseite mit 3,8-4,0 mm versenktem Bohrdurchmeser istder Abstand 0,7- 0,5 mm.

Fig. 2a

DOCID: <WO 0045950A1 I >

Syntheseblock (16x24=384) Teil I Unterseite



Unterseite:

- Bohrloch fuer Fixierstift
 Durchmesser 3,50 mm
 Bohrtiefe 6,00 mm

Bohrloch Unterseite
Versenktes Bohrloch 1,0 mm
3,00 mm Innendurchmesser
4,00 mm Aussendurchmesser

Dichtring aus PTFE/Silikon
Innendurchmesser 3,00 mm
Aussendurchmesser 4,00 mm

Alle Angaben in mm

Fig. 2b

SDOCID: <WO___0045950A1_I_>

Syntheseblock (16x24=384) Teil I Unterseite
Bohrloch vergrößert

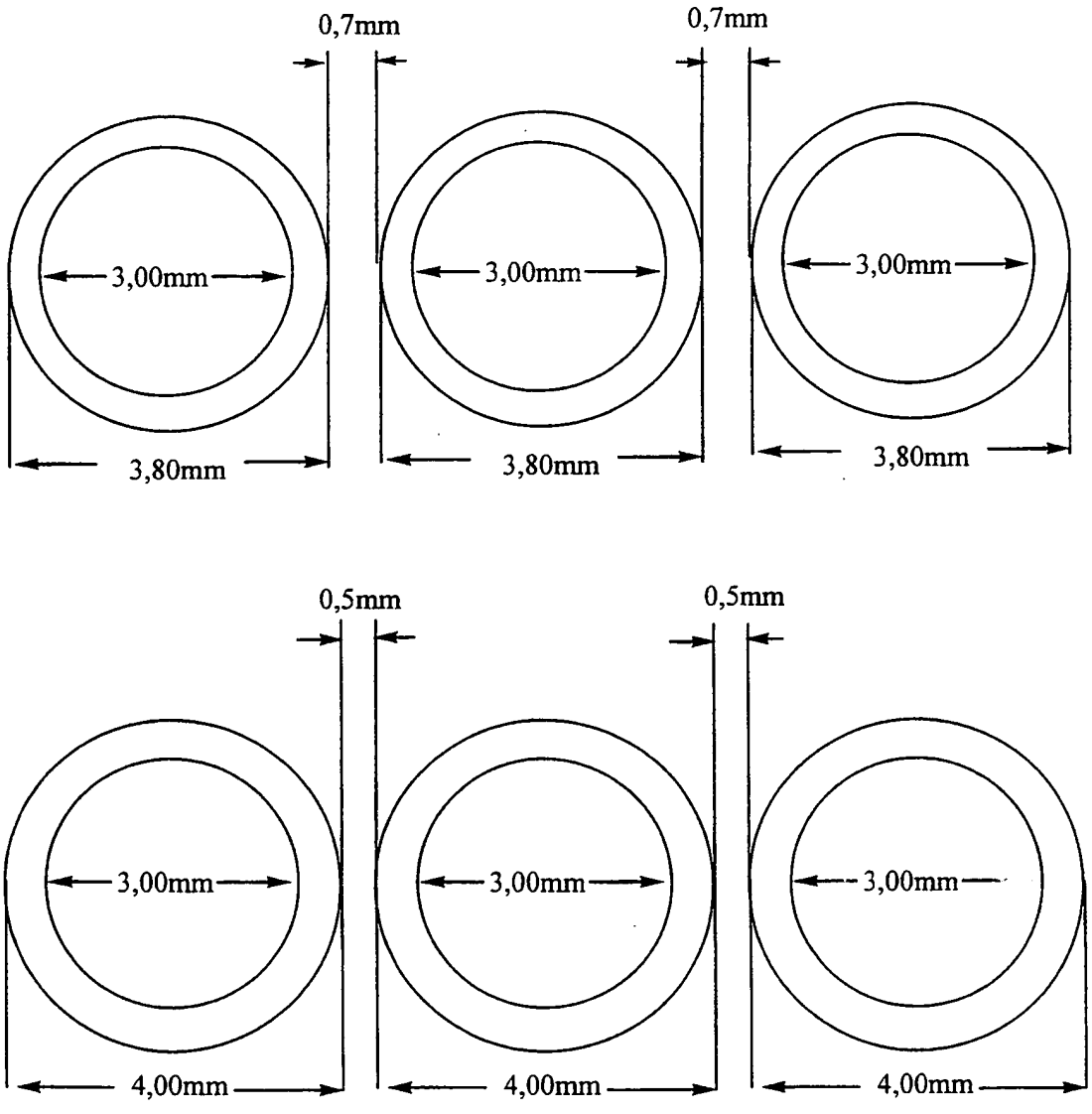


Fig. 2c

XOCID: <WO 0045950A1 I >

Durchflußsyntheseblock Prototyp II Teil II-Aufsicht

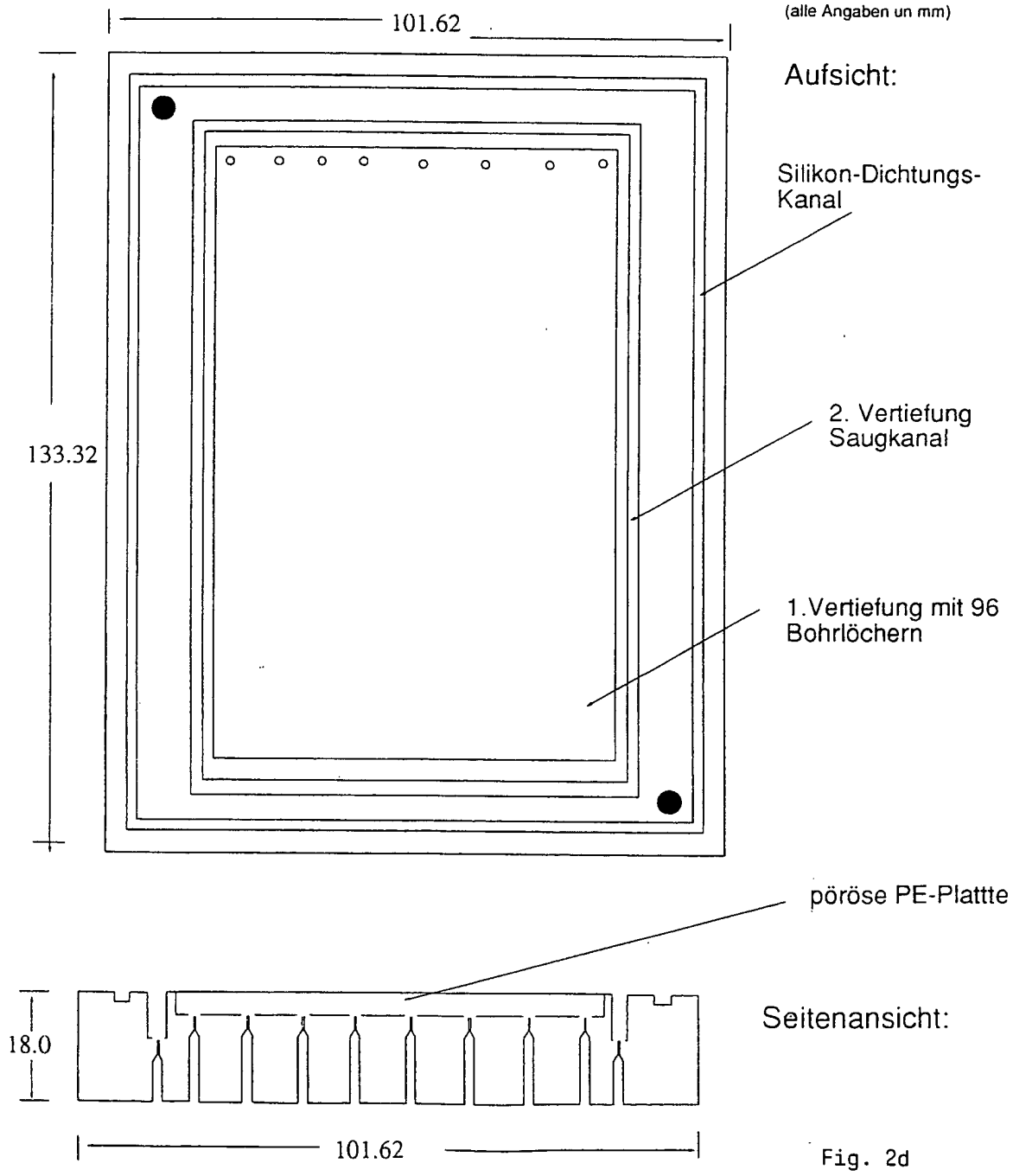
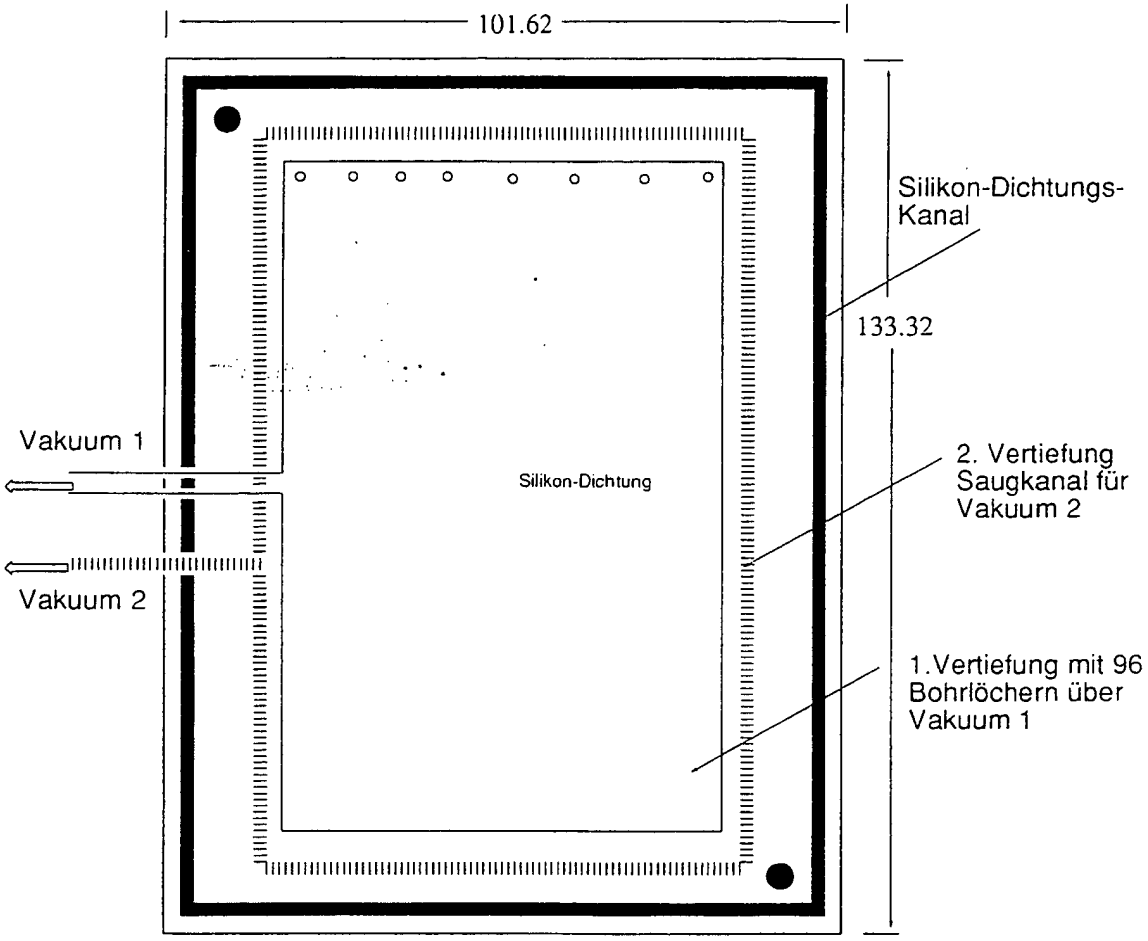


Fig. 2d

SDOCID: <WO___0045950A1_I_>

Durchflußsyntheseblock Prototyp II Teil III-Aufsicht



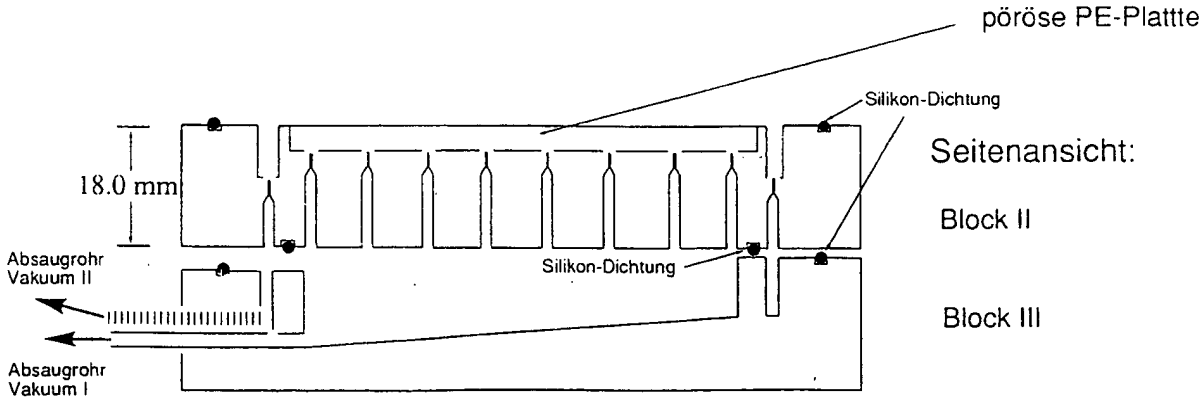
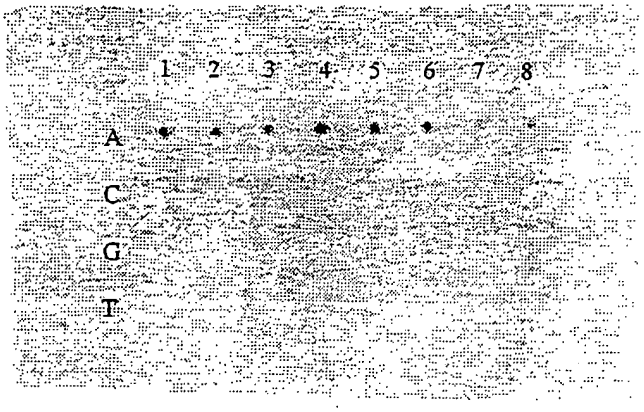
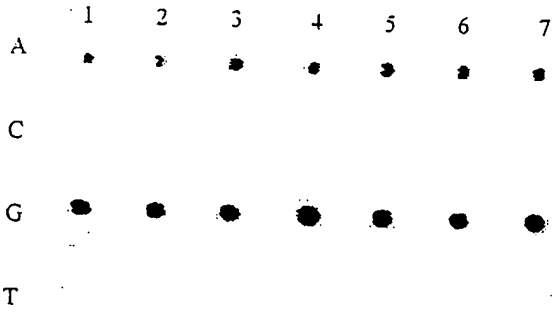


Fig. 2e

)OCID: <WO 0045950A1 I >

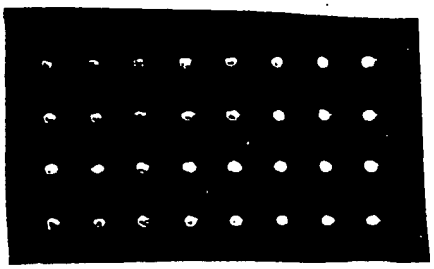


(a)



(b)

Die Spalte 8 wurde versehentlich nicht detektiert!



(c)

Fig. 3

SDOCID: <WO___0045950A1_I_>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat l Application No
PCT/DE 00/00365

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 B01J19/00 B01L3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 B01J B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
WPI Data, PAJ, EPO-Internal, COMPENDEX, INSPEC

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 108 603 A (SCHUETTE MICHAEL W) 28 April 1992 (1992-04-28) the whole document	1-12
A	GB 2 246 081 A (BIO RAD LABORATORIES) 22 January 1992 (1992-01-22) page 4, line 5 -page 6, line 19; figure 1	1-12
A	US 4 493 815 A (FERNWOOD GEORGE G ET AL) 15 January 1985 (1985-01-15) the whole document	1-12
A	US 5 624 815 A (EVANS CHRISTOPHER T ET AL) 29 April 1997 (1997-04-29) column 5, line 50 -column 6, line 10; figure 1	1-12

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 June 2000	27/06/2000

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Veefkind, V

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

)OCID: <WO___0045950A1_I_>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat l Application No
PCT/DE 00/00365

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 990 442 A (DEL CAMPO G B) 5 February 1991 (1991-02-05) abstract; claims 1-26; figures 1,2	10-12

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

3DOCID: <WO___0045950A1_I_>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat Application No
PCT/DE 00/00365

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5108603 A	28-04-1992	NONE	
GB 2246081 A	22-01-1992	US 5141719 A	25-08-1992
		CA 2043633 A,C	19-01-1992
		DE 4123874 A	23-01-1992
		FR 2664825 A	24-01-1992
		IT 1250493 B	08-04-1995
		JP 4227032 A	17-08-1992
US 4493815 A	15-01-1985	CA 1210309 A	26-08-1986
		DE 3425762 A	14-02-1985
		GB 2143946 A,B	20-02-1985
		JP 60043377 A	07-03-1985
US 5624815 A	29-04-1997	AT 135050 T	15-03-1996
		AU 3761993 A	21-10-1993
		BR 9306104 A	18-11-1997
		CA 2131090 A	21-09-1993
		DE 69301725 D	11-04-1996
		DE 69301725 T	25-07-1996
		DK 631634 T	24-06-1996
		EP 0631634 A	04-01-1995
		ES 2083853 T	16-04-1996
		FI 944340 A	19-09-1994
		WO 9319199 A	30-09-1993
		GR 3019409 T	30-06-1996
		JP 7509120 T	12-10-1995
		NO 943477 A	19-09-1994
		NZ 249934 A	24-06-1997
US 4990442 A	05-02-1991	IT 1206777 B	03-05-1989
		US 5202432 A	13-04-1993

DOCID: <WO 0045950A1 I >

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internati es Aktenzeichen
PCT/DE 00/00365

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 B01J19/00 B01L3/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 B01J B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
WPI Data, PAJ, EPO-Internal, COMPENDEX, INSPEC

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 108 603 A (SCHUETTE MICHAEL W) 28. April 1992 (1992-04-28) das ganze Dokument ---	1-12
A	GB 2 246 081 A (BIO RAD LABORATORIES) 22. Januar 1992 (1992-01-22) Seite 4, Zeile 5 -Seite 6, Zeile 19; Abbildung 1 ---	1-12
A	US 4 493 815 A (FERNWOOD GEORGE G ET AL) 15. Januar 1985 (1985-01-15) das ganze Dokument ---	1-12
A	US 5 624 815 A (EVANS CHRISTOPHER T ET AL) 29. April 1997 (1997-04-29) Spalte 5, Zeile 50 -Spalte 6, Zeile 10; Abbildung 1 --- -/--	1-12

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
16. Juni 2000	27/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Veefkind, V

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

3DOCID: <WO___0045950A1_I_>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internat es Aktenzeichen
PCT/DE 00/00365

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 990 442 A (DEL CAMPO G B) 5. Februar 1991 (1991-02-05) Zusammenfassung; Ansprüche 1-26; Abbildungen 1,2	10-12

1

DOCID: <WO 0045950A1 I >

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internati ...s Aktenzeichen
PCT/DE 00/00365

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5108603	A	28-04-1992	KEINE		
GB 2246081	A	22-01-1992	US	5141719 A	25-08-1992
			CA	2043633 A,C	19-01-1992
			DE	4123874 A	23-01-1992
			FR	2664825 A	24-01-1992
			IT	1250493 B	08-04-1995
			JP	4227032 A	17-08-1992
US 4493815	A	15-01-1985	CA	1210309 A	26-08-1986
			DE	3425762 A	14-02-1985
			GB	2143946 A,B	20-02-1985
			JP	60043377 A	07-03-1985
US 5624815	A	29-04-1997	AT	135050 T	15-03-1996
			AU	3761993 A	21-10-1993
			BR	9306104 A	18-11-1997
			CA	2131090 A	21-09-1993
			DE	69301725 D	11-04-1996
			DE	69301725 T	25-07-1996
			DK	631634 T	24-06-1996
			EP	0631634 A	04-01-1995
			ES	2083853 T	16-04-1996
			FI	944340 A	19-09-1994
			WO	9319199 A	30-09-1993
			GR	3019409 T	30-06-1996
			JP	7509120 T	12-10-1995
			NO	943477 A	19-09-1994
			NZ	249934 A	24-06-1997
US 4990442	A	05-02-1991	IT	1206777 B	03-05-1989
			US	5202432 A	13-04-1993

SDOCID: <WO 0045950A1 I >